

Aus dem Physiologischen Institut
der Freien Universität Berlin
(Direktor: Professor Dr. med. Otto H. G a u e r)

DAS VERHALTEN VON ANTIDIURETISCHER AKTIVITÄT,
TRYPSIN UND TRYPSININHIBITOREN IM PLASMA DER
RATTE BEI DER DURCH WASSERAUFNAHME AUS DEM
DARM AUSGELÖSTEN DIURESE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Phiroze S. Tata
aus Bombay

1972

Aus dem Physiologischen Institut
der Freien Universität Berlin

(Direktor: Prof. Dr. med. Otto H. G a u e r)

DAS VERHALTEN VON ANTIDIURETISCHER AKTIVITÄT, TRYPSIN
UND TRYPSININHIBITOREN IM PLASMA DER RATTE BEI DER
DURCH WASSERAUFNAHME AUS DEM DARM AUSGELÖSTEN DIURESE

Dissertation zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
PHIROZE S. TATA
aus Bombay

Referent: Professor Dr. med. O.H. G a u e r

Korreferent: Professor Dr. med. K. H i e r h o l z e r



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14. Januar 1972

INHALTSVERZEICHNIS

I.	Einleitung	1
II.	Biochemie der antidiuretischen Hormone	2
III.	Das Fermentsystem Trypsin und Trypsininhibitoren	2
IV.	Experimenteller Teil	4
IV a	Bestimmungsmethode der antidiuretischen Aktivität des Vasopressins im Plasma, nach der Methode von Tata und Gauer	
IV b	Bestimmungsmethode von Trypsin und Trypsininhibitoren nach der Methode von Blackwood und Mandl (7)	6
IV c	Durchführung des Hauptversuches	8
V.	Ein Modell für die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch exogenes Trypsin in Versuchstieren in vivo	9
VI.	Ergebnisse	10
VII.	Diskussion	12
VIII.	Zusammenfassung	14
	Literatur	29
	Lebenslauf	36

I. Einleitung

Es gibt in der älteren Literatur eine Reihe von Untersuchungen, nach denen oral aufgenommenes Wasser wesentlich rascher ausgeschieden wird als parenteral injiziertes (Ginsberg (12); Cow (8); Hashimoto (16)). Insbesondere soll parenteral zugeführtes Wasser unmittelbar keine Diurese erzeugen. Nach Cow (8) und Ambard et Schmidt (2) soll dem Wasser bei der Resorption ein diuretisch wirksamer Stoff aus der Magen- oder Darmwand zugeführt werden. Andere Autoren glauben, daß resorbiertes Wasser in der Leber einen solchen Stoff freisetzt. (Molitor (25); Adlersberg (1); Milies (24); Glaubach und Molitor (13)).

Dagegen behaupten Haberich, Aziz und Nowacki (15), daß eine Hypotonie des Portalblutes einen adäquaten Reiz auf einen osmorezeptorisch tätigen Mechanismus in der Leber ausübt. Durch die Reizung dieser Rezeptoren soll reflektorisch die Abgabe von antidiuretischem Hormon Vasopressin aus dem Hypophysenhinterlappen (HHL) gebremst und so die Diurese gesteigert werden. In dieser Arbeit fehlt jedoch der direkte Beweis für das Absinken des Vasopressinspiegels im Blutplasma.

Eine dritte Überlegung führt dahin, daß für die unmittelbar ausgelöste Diurese bei oral aufgenommenem Wasser weder ein diuretischer Stoff in der Magen- oder Darmwand oder in der Leber in Frage kommt, noch eine Vasopressinabbremung in dem HHL durch die osmoregulatorischen Veränderungen. Es wird vielmehr angenommen, daß ein Fermentsystem aus Dünndarm-Pancreas in der Blutbahn eine Inaktivierung von Vasopressin herbeiführt.

Die Tatsache, daß einerseits ein chemo-mechanischer Reiz des Darmes die Sekretion von Enterokinase auslöst, die für die Aktivierung von Trypsinogen zu Trypsin verantwortlich ist, und die Beobachtung andererseits, daß Trypsin als spezifisches Ferment für die Inaktivierung von antidiuretischem Hormon, nämlich Arginin-Vasopressin wirkt, führte zu der Überlegung, ob der durch Wasseraufnahme aus dem Darm ausgelösten Diurese eine solche fermentative Inaktivierung des Arginin-Vasopressin im Plasma zugrunde liegt. Die experimentelle Nachprüfung dieser Frage ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

II. Biochemie der antidiuretischen Hormone

Die Neurohypophyse aller bis jetzt untersuchten Wirbeltiere - mit der eventuellen Ausnahme der Knorpelfische - enthält dasselbe oxytocische Hormon: das zyklische Peptid Oxytocin, dessen schematische Strukturformel (A) in Abb. 1 angegeben ist. Das antidiuretische Hormon der Neurohypophyse zeigt hingegen Spezies bedingte Unterschiede. Bei niedrigen Wirbeltieren, wie z. B. Knochenfischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln, entspricht das antidiuretische Prinzip dem sogenannten Vasotocin, einem zyklischen Peptid, welches sich von Oxytocin lediglich in einem Aminosäurerest unterscheidet: das Leucin in Stellung 8 in den Seitenketten wurde durch Arginin ersetzt (schematische Strukturformel B in Abb. 1). Im Gegensatz hierzu unterscheiden sich die antidiuretischen Hormone der Säugetiere, die sogenannten Vasopressine von Oxytocin durch zwei Aminosäurereste, je einen im Ring und in der Seitenkette. Beide Vasopressine haben ein Phenylalanin in Position 3, während in Stellung 8 eines von ihnen, Arginin, das andere Lysin aufweist (Formel C und D in Abb. 1). Die Neurohypophyse der meisten Säugetiere - so auch des Menschen - enthält Arginin-Vasopressin (Arg-Vp). Lysin-Vasopressin wurde nur beim Schwein und Hippopotamus nachgewiesen. Einzelheiten siehe die Übersichtsarbeiten Berde (6); Van Dyke (33); Heller (18); Sawyer (27); Thorn (31).

III. Das Fermentsystem Trypsin und Trypsininhibitoren

Die meisten Proteasen sind nach ihrer biologischen Funktion Verdauungsfermente. Tab. 1 gibt eine Übersicht über einige wichtige Proteasen. Sie finden sich vorzugsweise extrazellulär im Magen-Darm-Trakt. Die Gesamtheit der Enzyme, die Peptidbindungen spalten, pflegt man ihrer Funktion nach in die Endopeptidasen und Exopeptidasen einzuteilen. Die Exopeptidasen sind dadurch gekennzeichnet, daß sie nur vom Ende der Peptidkette her spalten, also jeweils die endständigen Aminosäuren ablösen.

Die Endopeptidasen spalten die Proteine und Polypeptide an bestimmten Stellen in der Mitte der Kette; sie greifen das Kettenende nicht an. Das ist in Tab. 1 mit der Angabe "spezifisch für" angedeutet. Besonders ausgeprägt ist die Spezifität des Trypsins, das nur Lysin- und Arginin-Bindung spaltet, und zwar so, daß alle durch Trypsinwirkung entstehenden Peptide LyS- oder Arg-Carboxyl endständige Aminosäuren aufweisen. Lawler und du Vigneaud (23) und Thorn (31) stellten in in vitro-Versuchen eine solche proteolytische Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch das Ferment Trypsin fest. Das Ferment Trypsin befindet sich in Form einer inaktiven Vorstufe als Trypsinogen im frischen Sekret der Pankreasdrüsen. Es wird im Duodenum aktiviert, sobald das Pankreassekret mit der Darmschleimhaut in Berührung kommt. Durch die Enterokinase der Darmschleimhaut wird zunächst eine kleine Menge aktives Trypsin aus dem Trypsinogen gebildet. Dadurch kommt die autokatalytische Bildung des Trypsins in Gang. Das Trypsin seinerseits katalysiert die Umwandlung des Chymotrypsinogens in Chymotrypsin, so daß in kurzer Zeit alle Profermente in die Fermente umgewandelt werden.

Ein großer Teil von aktivem Trypsin ist durch eine Gruppe von Eiweiß, die sogenannten Trypsininhibitoren, in einen proteolytisch inaktiven Komplex umgewandelt. Diese Trypsininhibitoren sind basische Polypeptide mit einem Molekulargewicht von etwa 9000. Sie kommen im Tierreich und Pflanzenreich vor. Kunitz (22) und Kazal (21) isolierten solche Trypsininhibitoren aus Pancreas. Die Trypsininhibitoren aus Blutplasma wurden erst 1953 von Peanasky und Laskowski (26) isoliert. Der Mechanismus der chemischen Reaktion zwischen Trypsin und Trypsininhibitoren ist bis heute nicht ganz geklärt. Nach Angaben von Kunitz (22) soll die Reaktion in äquimolekularem Verhältnis stattfinden. Diese Tatsache wurde später von Peanasky und Laskowski (26) bestätigt.

Die schematische Abbildung 2 zeigt unsere Arbeitshypothese, einer durch Wasseraufnahme aus dem Darm ausgelösten Diurese. Um ihre Tragfähigkeit zu prüfen, wurde in den Hauptversuchen das Verhalten

von Trypsin, Trypsininhibitoren und Arginin-Vasopressin im Blutplasma während einer solchen Diurese untersucht.

IV. Experimenteller Teil

IV a Bestimmungsmethode der antidiuretischen Aktivität des Vasopressins im Plasma, nach der Methode von Tata und Gauer

Eine Übersicht über die bisherigen Methoden und ihre Empfindlichkeiten gibt die Tab. 2. Eine sehr empfindliche Bestimmungsmethode wurde von Tata und Gauer (28, 29) entwickelt. Diese Methode ermöglicht eine Bestimmung der antidiuretischen Aktivität des Vasopressins bis zu $0,25 \mu\text{E}$. Später haben einige Autoren Czazkes (9); Duff (10); Grindeland (14); Heintz (17) durch Modifikation dieser Methode die antidiuretische Aktivität des Vasopressins sogar bis zu $0,1 \mu\text{E}$ bestimmen können.

Im wesentlichen handelt es sich um eine weitere Verbesserung der Originalmethoden von Jeffers (20) und Vorherr und Friedberg (35). Weibliche Sprague-Dawley Ratten, etwa 150 g schwer, werden mit Äthylalkohol narkotisiert. Durch intravenöse Zufuhr von hypotonischer (0,35 %iger) Kochsalzlösung werden die Tiere in eine Wasserdiurese versetzt. Jeder über einen Blasenkatheter ausgeschiedene Urintropfen wird auf einem Kymographen registriert. Dabei sorgt eine feed-back-Anordnung für den intravenösen Ersatz der mit dem Harn ausgeschiedenen Flüssigkeit durch eine entsprechende Menge 0,35 %iger Kochsalzlösung. Die zu testenden Substanzen werden in die Vena jugularis injiziert.

Eine standardisierte Vorbereitung der Tiere erwies sich als sehr wichtig. Die Ratten werden 2 Tage vor Versuchsbeginn täglich über eine Magensonde mit 2 ml Wasser zusätzlich hydriert. Am Morgen des Versuchstages erhält das Tier eine Wasserbelastung von 5 ml/100 g. Etwa 90 Minuten danach wird

das Versuchstier mit 12 %iger wässriger Äthylalkohollösung narkotisiert. Die Eingabe dieser Alkohollösung erfolgt per os durch Magensonde. Um das Tier in Tiefennarkose zu versetzen, wird eine zweimalige Gabe von etwa je 5 ml 12 %iger Alkohollösung im Intervall von einer halben Stunde benötigt. Erst bei Eintritt einer tiefen Narkose wird ein PVC Blasenkatheter eingelegt. Es folgt dann die Freilegung der Vena jugularis. In eine freigelegte Vena jugularis wird ein PVC Schlauch ($\varnothing$ 0,5 mm) in Richtung des rechten Vorhofes eingelegt und festgebunden. Der Jugulariskatheter wird jetzt mit dem Infusionssystem verbunden. Dieses Infusionssystem besteht aus einer mit 0,35 %iger Kochsalzlösung gefüllten Infusionsflasche. Der Schlauch von der Infusionsflasche zum Jugulariskatheter wird im Ruhezustand von dem beweglichen Eisenkern eines Induktionsmagneten abgeklemmt. Das freie Ende des Blasenkatheters wird über einen Steg mit einer Photozell-Schranke verbunden. Jeder fallende Urintropfen löst in der Photozell-Schranke einen Impuls aus, der über ein Relais und den Totalisator auf dem Kymographen registriert wird. Gleichzeitig öffnet sich für kurze Zeit die elektromagnetische Schlauchklemme des Infusionsschlauches und läßt einen Tropfen der 0,35 %igen Kochsalzlösung durchlaufen. Dadurch wird der Hydrierzustand des Versuchstieres konstant gehalten. Alle operativen Eingriffe werden an tief narkotisierten Tieren, soweit möglich, ohne größere Schnittwunden und Blutverlust durchgeführt, da die Faktoren, wie Schmerz und Volumenänderung, als Vasopressin auslösende Faktoren aus dem HHL bekannt sind. Um eine endogene Vasopressinausschüttung und gleichzeitig eine konstante tiefe Narkose des Versuchstieres zu gewährleisten, bekommt es durch die Magensonde über eine Infusionspumpe 1,2 ml 12 %iger Äthylalkohollösung pro Stunde während der ganzen Versuchszeit.

Zu Beginn wird das Versuchstier eine Stunde lang mit 0,35 %iger Kochsalzlösung mit einer Geschwindigkeit von 6 bis 8 Tropfen

pro Minute hyperhydriert. Danach wird die feed-back-Anordnung angeschlossen. Sobald eine konstante Diurese eintritt, werden 0,2 ml Pitressin- oder Tonephin-Lösungen verschiedener Konzentrationen mit einer Geschwindigkeit von 0,2 ml/min. in den Jugularisschlauch gespritzt. An einem Versuchstier werden in der Regel über 3 bis 4 Stunden nicht mehr als 4 Testproben von Tonephin oder Pitressin-Lösung sowie nicht mehr als 3 Plasmaproben im Abstand von mindestens 50 Minuten auf antidiuretische Aktivität getestet. Abb. 4. zeigt die antidiuretische Aktivität von 2, 1 und 0,5 μ E Vasopressin. In Tab. 3 sind die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung im Bereich von 0,25 bis 2,0 μ E ADH zahlenmäßig wiedergegeben. In Abb. 5 sind diese Ergebnisse von 10 Versuchen graphisch dargestellt.

IV b Bestimmungsmethode von Trypsin und Trypsininhibitoren nach der Methode von Blackwood und Mandl (7)

Diese Bestimmungsmethode beruht auf einer Hydrolysisierung des Substrats Benzoylarginin- β -naphthylamid (BANA) durch Trypsin. Die von diesem Substrat freigegebene Menge an Naphthylamin bildet mit N(1-naphthyl)äthylendiamin einen Azofarbstoff, der bei 540 und 560 m μ colorimetriert wird. Die Empfindlichkeitsgrenze dieser Methode liegt bei 0,2 μ g Trypsin. Für die Trypsininhibitorenbestimmung wird das Plasma mit einer bestimmten Menge reinen Trypsins in einer Pufferlösung von pH 7,2 5 Minuten lang bei 37°C inkubiert und danach das restliche Trypsin nach der bereits beschriebenen Methode bestimmt.

Vorbereitung der Lösungsmittel

- 1) N-Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid Substratlösung:
80 mg N-Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid werden in 100 ml destilliertem Wasser gelöst und mit der gleichen Menge 0,2 molarer Citrat-phosphat-Pufferlösung von pH 7,7 vermischt. Diese Substratlösung ist bei einer Temperatur

von $+4^{\circ}\text{C}$ mindestens 14 Tage haltbar.

- 2) 0,1 Zige wässrige NaNO_2 -Lösung. Diese Lösung darf nicht älter als 24 Stunden sein.
- 3) 0,5 Zige wässrige Ammoniumsulfamatlösung. Sie ist bei einer Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ in einer Dunkelflasche einen Monat haltbar.
- 4) 0,05 Zige N-(1-naphthyl)äthylendiamin Lösung in 95 Zigem Alkohol. Die Lösung ist ebenfalls haltbar für 1 Monat in einer Dunkelflasche bei einer Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$.

Versuchsanordnung für die Bestimmung von Trypsin

0,2 ml Plasma wird mit 0,2 ml N-Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid-Substratlösung zwei Stunden lang bei 37°C inkubiert. Danach wird 1 ml 40 Zige Trichloressigsäure hinzugegeben. Der Niederschlag wird sofort filtriert. Zu 1 ml klarem Filtrat wird 1 ml 0,1 Zige wässrige NaNO_2 -Lösung hinzugeführt. Nach genau 3 Minuten wird dazu 1 ml 0,54 Ziges wässriges Ammoniumsulfat zugegeben. Nach weiteren 2 Minuten folgen 2 ml 0,05 Zige N-(1-naphthyl)äthylendiamin-Lösung. Der dabei entstandene Azofarbstoff wird im Colorimeter bei 540 oder 560 m μ gemessen. Eine Standard-Eichkurve wird mit verschiedenen Konzentrationen von Trypsin (Trypure 25 Anson unit/g Firma Novos therapeutische Laboratorium (Copenhagen)) eingestellt.

Versuchsanordnung für die Bestimmung von Trypsininhibitoren

0,2 ml Plasma wird mit 0,8 ml Pufferlösung von 7,2 pH vermischt und mit 1 ml 0,1 Zigem Trypsin 5 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Danach wird weiter bestimmt wie in der bereits beschriebenen Methode zur Bestimmung von Trypsin. Als Kontrollmessung nimmt man einmal die gemischte Lösung von 1 ml 1 Zigem Trypsin mit 1 ml Pufferlösung und einmal die gemischte Lösung von 0,2 ml Plasma mit 0,8 ml Pufferlösung und 1 ml destilliertes Wasser.

IV c Durchführung des Hauptversuches

Die Versuche werden an etwa 200 g schweren weiblichen Ratten (Stamm: Sprague-Dawley) ausgeführt. Die Tiere bekommen "Altromin R" Trockenfutter und Trinkwasser ad libitum. Operativ werden den Tieren Dauerkatheter in die Aorta-abdominalis und in das Duodenum nach der Methode von Aziz (5) eingebunden. In Äthernarkose wird durch eine mediane Laparatomie die Aorta abdominalis und das Duodenum freigelegt. Wir verwenden PVC-Schläuche (P₂, 0,5 Kl, Fa. Braun, Helsingør), auf die unter Zuhilfenahme passender Zwischenstücke (Polyäthylen PE 100 Intermedic oder Nr. 52 Portex, PVC 1,0-1,5) eine Stahlkanüle (Nr. 16) aufgesteckt wird. Das Zwischenstück bildet einen kleinen Steg, der für die spätere Befestigung wichtig ist. Der Katheter in der Aorta abdominalis wird mit verdünnter Heparinlösung (Liquemin 1:10 mit steriler 0,9 Ziger NaCl-Lösung) gefüllt und das äußere Ende durch passende Polyäthylenkappen verschlossen. Bevor man die Kanüle in das Gefäß einsticht, werden in etwa 2 cm Abstand zwei Schlingen um die Aorta abdominalis gelegt und lose über dem Gefäß verknotet. Die Einstichstelle muß so weit cranial liegen, daß der Steg sich unmittelbar vor der vorderen Befestigungsschlinge befindet, da sonst die Kanüle entweder herausrutscht oder bei zu kleinem Abstand das Gefäß aufspringt. Nun wird der Katheter fest auf die Knoten der Befestigungsschlingen aufgebunden. Durch dieses Vorgehen wird verhindert, daß die Kanüle herausrutscht oder sich seitlich verschiebt. In gleicher Weise wird ein Dauerkatheter in das Duodenum eingeführt und fixiert. Die durchschnittliche Operationsdauer beträgt etwa 30 Minuten. Um ein Abbeißen der aus dem Rücken herausragenden Kanülenenden zu verhindern, werden diese durch ein quadratisches, feinmaschiges Drahtnetz geführt und mit einem zirkulären Heftpflasterverband gesichert.

Das Versuchstier ist durchschnittlich 2 Tage nach der post-operativen Vorbereitung versuchsbereit. Am Versuchstag bekommt es ca. zwei Stunden vor Anfang des Versuches 2 ml Wasser durch eine Magensonde. Später wird unter Ätherrausch ein PVC-Blasenkatheeter in die Harnblase des Versuchstieres gelegt und an der Schwanzwurzel befestigt. Das Versuchstier wird jetzt in einen relativ engen Plexiglasbehälter gebracht. Die einoperierten Schläuche werden auf ihre richtige Lage und Durchgängigkeit geprüft. Der Schlauch in der Aorta abdominalis wird dann mit 0,2 ml verdünnter Heparinlösung (Liquemin 1:10 mit steriler 0,9 %iger NaCl-Lösung) gespült. Der Blasenkatheeter wird mit einem genormten PVC-Schlauch verbunden. In den Vorversuchen wird die Menge Flüssigkeit in diesem PVC-Schlauch per mm Länge errechnet. Alle 30 Minuten wird die gesamte Urinausscheidung des Tieres einfach von der vollgefüllten Schlauchlänge (mm) umgerechnet.

Beim Eintreten konstanter Diurese bekommt das Tier über den Duodenalkatheter einmalig 2 ml Wasser. Nach einer Latenzzeit von etwa 30 Minuten tritt eine Steigerung der Harnausscheidung ein, die sich innerhalb von drei Stunden wieder normalisiert (Abb. 3). Über den Katheter in der Aorta abdominalis wird eine Blutprobe von 0,6 ml entnommen, und zwar jeweils bei Eintritt der konstanten Diurese, auf dem Höhepunkt und nach der Normalisierung der Diurese. Um Volumenänderungen durch die dreimalige Blutentnahme zu vermindern, werden gleiche Mengen isotonischer Kochsalzlösung injiziert. Die Blutproben werden sofort zentrifugiert und die Blutplasma-proben werden auf antidiuretische Aktivität nach der Methode von Tata und Gauer sowie Trypsin und Trypsininhibitorengehalt nach der Methode von Blackwood und Mandl bestimmt.

V. Ein Modell für die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch exogenes Trypsin in Versuchstieren in vivo

Die Arbeitshypothese, daß ein fermentativer Abbau des Vasopressins durch Trypsin zum Teil für die Wasserdiurese nach

oralen Wassergabe verantwortlich sein könnte, wurde durch das Ergebniss eines Modellversuches ermutigt.

Die von Thorn und Silver (30) durchgeführten Inkubationsversuche in vitro haben eindeutig gezeigt, daß das Vasopressinpräparat "Pitressin" durch Trypsin und Chymotrypsin bei einer Inkubationszeit von 12 Stunden bei 37°C vollständig inaktiviert wird. Dagegen haben die Fermente Pepsin und Carboxypeptidase keinen Einfluß auf die Inaktivierung von Pitressin. Wir konnten diesen Befund in unseren Tierexperimenten in vivo bestätigen.

Das Versuchstier wird wie in der bereits beschriebenen Methode für die Bestimmungsmethode von Vasopressin nach Tata und Gauer vorbereitet. Zuerst wird eine starke antidiuretische Aktivität durch Einspritzen einer relativ hohen Dosis von 20 uE Vasopressin in die mit Alkohol narkotisierte, hyperhydrierte weibliche Ratte erzeugt. Nach Normalisierung der Diurese auf den Initialwert bekommt das Tier eine Stunde lang eine konstante Trypsin-Infusion von 5 µg/ml mit einer Geschwindigkeit von 0,1 ml/min. Unmittelbar nach Beendigung der Trypsininfusion wird die Injektion von 20 µE Vasopressin wiederholt. Sie erzeugt keine antidiuretische Aktivität. Nach 30 und 60 Minuten werden jeweils noch einmal 20 µE Vasopressin injiziert, die eine steigende antidiuretische Aktivität hervorrufen (siehe Abb. 6). Diese Befunde zeigen, daß Trypsin in dieser Konzentration selbst keine Diurese erzeugt und daß es die antidiuretische Aktivität von injiziertem Vasopressin aufhebt. Diese Beobachtung ist sehr wahrscheinlich auf die Inaktivierung des Vasopressins durch das im Plasma befindliche Trypsin zu erklären.

VI. Ergebnisse

Abb. 3 zeigt den Verlauf der Diurese und das Verhalten von Trypsin, Trypsininhibitoren und die antidiuretische Aktivität (ADA) im Plasma der Ratten, bei denen eine Wasser-

Diurese durch Gabe von 2 ml Wasser im Darm ausgelöst wurde. Bei allen zehn Versuchen ergibt sich mit steigender Diurese im Plasma ein Anstieg des Trypsingehaltes, während die Konzentration der Trypsininhibitoren sowie die antidiuretische Aktivität abnehmen.

Die Kontroll-Diurese der durchgeführten Versuche liegt zwischen 4,05 $\mu\text{ml}/\text{min}$ und 12,70 $\mu\text{ml}/\text{min}$. Tab. 4 gibt Auskunft über den prozentualen Anstieg der Diurese 30, 60, 90 und 120 Minuten nach der Gabe von 2 ml Wasser im Darm. Bei zehn durchgeführten Versuchen finden wir in 6 Versuchen den maximalen Anstieg innerhalb der ersten 30 Minuten, in 3 Versuchen zwischen 30 und 60 Minuten und nur in einem Versuch erst nach 90 Minuten. Die Normalisierung der Diurese zum Kontrollwert ergibt sich in 6 Versuchen innerhalb von 120 Minuten, in 2 Versuchen erst nach 150 Minuten und in 2 Versuchen schon innerhalb von 90 Minuten.

Der Verlauf der Kurve des Trypsingehaltes, bzw. des prozentualen Anstieges des Trypsins im Plasma zu Beginn des Versuches, während der Diurese nach 30 Minuten und nach Normalisierung der Diurese ist in Tab. 5 dargestellt. Die Kontrollwerte für Trypsin im Rattenplasma unter unseren Versuchsbedingungen liegen zwischen 1,4 und 3,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Plasma. Die prozentuale Zunahme des Trypsingehaltes bei maximalem Diureseanstieg in den ersten 30 Minuten liegt zwischen 36,3 und 435,7 %.

Der Trypsininhibitorengehalt und der prozentuale Abfall der Trypsininhibitoren im Plasma vor, während und nach 30 Minuten und nach Abschluß der Diurese sind in Tab. 6 dargestellt. Die Kontrollwerte liegen zwischen 272 und 2480 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Plasma, die prozentuale Abnahme zwischen 1,0 und 40 %. Dieser Befund ist nicht signifikant.

Da in unserer Problemstellung eine absolute quantitative Aussage über die Vasopressinmenge im Plasma von geringem Interesse ist, und da die verfügbare Menge Plasma (nämlich 0,1 ml)

für die doppelte Bestimmung - eventuell mit Verdünnungsverfahren - für die Untersuchung von antidiuretischer Aktivität zu gering ist, wird die antidiuretische Aktivität (ADA) vom Plasma statt in Vasopressineinheit (ADH) in μml Urindefizit ausgedrückt. Die Kontrollwerte der antidiuretischen Aktivität des Plasmas der nicht narkotisierten Versuchstiere liegt zwischen 85 und 2270 μml Urindefizit pro 0,1 ml Plasma. In allen zehn Versuchen wird bei Auftreten der Diurese keine antidiuretische Aktivität im Plasma der Versuchstiere festgestellt. Nach Normalisierung der Diurese zu den Ausgangskontrollwerten zeigt das Plasma wieder eine antidiuretische Aktivität (siehe Tab. 7).

Es wird das Verhalten der Diurese sowohl gegenüber der Zunahme von Trypsin wie auch gegenüber der Abnahme von Trypsin-inhibitoren untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen einerseits eine lineare Beziehung zwischen der prozentualen Steigerung der Diurese und der prozentualen Zunahme des Trypsingehaltes, wie Abb. 7 erkennen läßt. Die prozentuale Abnahme der Trypsininhibitoren mit zunehmender Diurese ist wegen der geringen Zahl der Messungen nicht verwertbar.

VII. Diskussion

Seit den klassischen Untersuchungen von Verney (34) wird allgemein angenommen, daß eine minimale Osmolaritätsänderung des Blutes von 1 % einen Reiz für das Osmorezeptorensystem des Diencephalon darstellt und damit die Vasopressin-Sekretion im HHl steuert. Die Sekretion von Vasopressin ist aber nicht nur von der Osmolarität des Carotisblutes abhängig, sondern unterliegt auch im besonderen kreislaufphysiologischen Faktoren im Rahmen der Volumenregulation. Die durch Vorhofsdehnung an narkotisierten Hunden ausgelöste Diurese wurde von Henry, Gauer und Reeves (19) auf der Basis des ADH-Mechanismus erklärt. Allerdings fanden Arndt und Mit-

arbeiter (3,4), daß auch hämodynamische Faktoren dabei eine Rolle spielen können, da in einer Anzahl ihrer Versuche sowohl die Glomerulus-Filtration als auch die Nierendurchblutung anstiegen. Ferner stellten sie fest, daß bei niedrigem U/P-Verhältnis des Na-Gehaltes eine stark ausgeprägte Diurese zu erwarten ist. Dabei vermuteten sie, daß neben der Zunahme der Markdurchblutung gleichzeitig eine Abnahme von ADH im Blutserum vorliegt.

Die ausgelöste Wasserdurese, bedingt durch die Abnahme des Vasopressins im Blut, wurde bisher lediglich durch Hemmung der Vasopressin-Freisetzung im HHL erklärt. Über eine fermentative Inaktivierung des kreisenden Vasopressins im Blut bei unveränderter Vasopressin-Freisetzung vom HHL wurde bisher nicht diskutiert. Bei einer durch Wasseraufnahme aus dem Darm ausgelösten Diurese wird zum ersten Mal eine solche fermentative Inaktivierung von Vasopressin im Blutplasma wahrscheinlich gemacht. Es wurde mit steigender Diurese nach Gabe von 2 ml Wasser in den Darm, eine Vermehrung des Trypsingehaltes im Plasma gefunden. Gleichzeitig nahm die Konzentration von Vasopressin ab. Diese Befunde lassen sich durch folgende Arbeitshypothese erklären:

Die einmalige Gabe von 2 ml Wasser in den Darm erzeugt einen gewissen chemo-mechanischen Reiz, welcher die Sekretion von Enterokinase auslöst. Durch die Enterokinase der Darmschleimhaut wird zunächst eine kleine Menge aktives Trypsin aus dem Trypsinogen gebildet. Dadurch kommt die autokatalytische Bildung des Trypsins in Gang. Nach unseren Ergebnissen gelangen meßbare Mengen Trypsins in die Blutbahn, welche verantwortlich für die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin sein könnten (siehe Abb. 2).

Die Abb. 6 ist ein Modell für die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch Trypsin in vivo. Der Befund bestätigt die von Thorn und Silver (3) durchgeführten Inkubationsversuche

in vitro. Es wäre allerdings zu diskutieren, ob die Unwirksamkeit von Vasopressin nach Trypsininfusion auf einem Abbau von Vasopressin beruht oder ob eine kompetitive Verdrängung von ADH durch Trypsin an den Tubuluszellen vorliegt.

VIII. Zusammenfassung

Es wurde gezeigt, daß eine fermentative Inaktivierung des Vasopressins durch das Trypsin-Trypsininhibitorensystem für eine durch Wasseraufnahme aus dem Darm ausgelöste Diurese verantwortlich sein kann. Es findet sich im Plasma mit steigender Diurese nach Gabe von 2 ml Wasser im Darm eine Vermehrung des Trypsingehaltes, während die antidiuretische Aktivität im Plasma absinkt. Die prozentuale Zunahme des Trypsingehaltes im Plasma verläuft linear mit der prozentualen Zunahme der Diurese.

Ein Modell für die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch Trypsin in vivo wurde in unseren Tierversuchen gezeigt.

Tab. 1: Proteolytische Enzyme des Gastrointestinaltraktes

Enzyme	Vorkommen im	Approx. Mol.Gew.	pH-Optimum	Spezifisch für	Bemerkungen
--------	-----------------	---------------------	------------	----------------	-------------

(A) Endopeptidasen

Pepsin	Magensaft	36000	1,8 - 3,8	X $\downarrow$ Phe $\downarrow$, X $\downarrow$ Tyr $\downarrow$ X, - Leu $\downarrow$ Glu -	Denaturierte Proteine werden rascher angegriffen als native.
Trypsinogen	Pancreas	23700	-	-	Nichtenzymatische Vorstufe des Trypsins
Enterokinase	Dünndarm	-	etwa 6	Verwandelt Trypsinogen in Trypsin und Hexapeptid	Die Bildung des Proteins wird durch Ca^{++} unterdrückt
Chymotrypsine	Dünndarm	20000-30000	7,5 - 8,5	Phe $\downarrow$ X, Tyr $\downarrow$ X	-
Trypsin	Dünndarm	23800	7,5 - 8,5	Lys $\downarrow$ X, Arg $\downarrow$ X	Ca^{++} steigern die Aktivität

(B) Exopeptidasen

Carboxypeptidase	Dünndarm	34000	7,5 - 8,5	Endständig - $COO^{\ominus}$	Sulphydrylgruppen in Protein notwendig für Aktivität
L-Leucin-amino-dipeptidase	Dünndarm	-	etwa 8	R R ₁ H ₂ N-CH-CO-NH-CHCOOH Am aktivsten, wenn R=L-Leucin Rest.	Durch Mg^{++} oder Mn^{++} aktiviert.
Dipeptidase	Dünndarm	-	etwa 8	Dipeptide	Aktiviert durch Mn^{++}

Tab. 2: Bestimmungsmethoden des antidiuretischen Hormons
Arginin-Vasopressin

Jahr	Autoren	Versuchstier	Narkose während des Versuches	Empfindlichkeit von Vasopressin (μ E)
1931	Burn J. H.	Ratte	Keine	400
1935	Theobald u. Samaan	Hund	Keine	250
1939	Walker	Kaninchen	Peraldehyd	500
1942	Jeffers et al	Ratte	Alkohol	20
1947	Fugo u. Aragon	Kaninchen	Morphin + Urethan	200
1952	Heller H. u. Blackmore	Maus	Ohne	12,5
1953	Ginsburg u. Heller H.	Ratte	Ohne	100
1953	Dicker	Ratte	Alkohol	3,5 - 50
1954	Holáček et al	Ratte	Alkohol	5 - 20
1958	Anderson u. Person	Ziege	Keine	1000
1958	Dettelbach	Ratte	Alkohol	5
1959	J. Heller u. J. Stulc	Ratte	Alkohol	0,625

Tab. 3: Verminderung der Diurese bei Ratten nach
intravenöser Vasopressingabe.

Versuch	Vasopressin- intravenös (μ E)	Anfangsdiurese (ml/min)	Verminderung der Diurese (ml) *	
1	0,25 0,5 1,0	0,157 0,157 0,142	0,828 1,144 3,671	
2	0,25 0,5 1,0	0,142 0,128 0,185	0,914 1,178 2,242	
3	0,25 0,5 1,0	0,128 0,128 0,071	1,014 1,071 1,242	
4	0,5 1,0 2,0	0,085 0,085 0,157	1,042 1,971 2,800	
5	0,5 1,0 2,0	0,114 0,100 0,128	1,100 2,542 2,914	
6	0,25 0,5 1,0	0,085 0,116 0,186	0,871 1,400 2,728	
7	0,5 1,0 2,0	0,071 0,157 0,142	1,285 3,114 2,228	
8	1,0 2,0	0,085 0,200	1,614 4,100	
9	1,0 2,0	0,185 0,314	2,300 4,242	
10	1,0 2,0	0,200 0,214	2,542 3,785	
Tonephin (μ E)	N	Verminderung der Diurese (ml)		P
		$\bar{X}$	σ	
0,25	4	0,907	0,080	0,0025 0,0005 0,0250
0,5	7	1,174	0,128	
1,0	10	2,397	0,703	
2,0	6	3,345	0,812	

Tab. 4: Das Verhalten der Diurese nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter direkt in den Darm

Versuch Nr.	Kontroll- Diurese (μ ml/min)	Diuresenanstieg nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter in der Zeit von				Normalisierung der Diurese nach (min)
		0 - 30 Min.	30 - 60 Min.	60 - 90 Min.	90 - 120 Min.	
		μ ml/min %	μ ml/min %	μ ml/min %	μ ml/min %	
1	8,24	13,96 69,4	10,20 23,7	10,50 27,4	10,40 26,2	150
2	9,82	11,40 16,0	13,00 32,3	13,00 32,3	-	120
3	7,60	8,40 11,5	8,80 11,5	9,44 24,2	-	120
4	8,52	23,03 170,3	21,71 155,9	8,81 3,4	-	120
5	12,70	79,90 529,1	28,40 123,6	-	-	90
6	7,30	40,30 452,0	9,40 28,7	7,50 2,7	-	120
7	4,05	5,30 30,8	8,30 104,9	7,70 90,4	-	120
8	7,13	14,90 108,9	21,10 195,9	8,10 13,6	-	120
9	4,32	9,72 125,0	5,69 31,7	-	-	90
10	3,02	5,63 86,4	5,40 78,8	6,66 120,5	5,74 90,0	150

Tab. 5: Änderung des Gehaltes an Trypsin im Blutplasma nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter
direkt in den Darm

Versuch Nr.	Trypsingehalt im Rattenplasma ($\mu\text{g/ml}$ Plasma)				Nachperiode ($\mu\text{g/ml}$)
	Vorperiode ($\mu\text{g/ml}$)	30 Minuten nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter			
		Bei Diureseanstieg von %	Trypsingehalt ($\mu\text{g/ml}$ Plasma)	Trypsinanstieg %	
1	2,2	69,4	4,1	86,3	3,00
2	3,0	32,3	5,8	93,3	2,40
3	2,8	24,2	4,1	46,4	2,40
4	2,2	170,3	5,8	163,6	2,50
5	2,8	529,1	15,0	435,7	2,00
6	2,4	452,0	12,2	408,0	2,20
7	3,0	30,8	5,0	66,6	2,80
8	2,2	108,9	3,0	36,3	1,56
9	1,6	125,0	4,1	156,2	1,00
10	1,4	86,4	3,1	121,4	2,20

Tab. 6: Änderung des Gehaltes an Trypsininhibitoren im Blutplasma nach Gabe von 2 ml Wasser durch

Duodenalkatheter direkt in den Darm

Versuch Nr.	Trypsininhibitorengehalt im Rattenplasma (µg/ml Plasma)				
	Vorperiode (µg/ml)	30 Minuten nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter			Nachperiode
		Bei Diureseanstieg von (%)	Trypsininhibitoren- gehalt(µg/ml Plasma)	Trypsininhibitoren abfall (%)	
1	606	69,4	540	10,8	620
2	308	32,3	265	11,7	320
3	700	24,2	420	40,0	620
4	466	170,3	408	12,5	478
5	2480	529,1	2450	1,0	2480
6	272	452,0	262	3,6	270
7	600	30,8	448	25,3	536
8	576	108,9	552	4,16	464
9	464	125,0	452	2,5	472
10	465	86,4	454	2,3	462

Tab. 7: Untersuchung des Blutplasmas von Versuchstieren auf antidiuretische Aktivität
nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter direkt in den Darm.

Versuch Nr.	Antidiuretische Aktivität (Urinderfazit in μml) von 0,1 ml Plasma des Versuchstieres					
	Vorperiode			Nachperiode		
	30 Minuten nach Gabe von 2 ml Wasser durch Duodenalkatheter in den Darm					
	Kontroll- Diurese ($\mu\text{ml}/\text{min}$)	ADA (μml)	Bei Diureseanstieg von (%)	ADA (μml)	Nach Normali- sierung von Diurese ($\mu\text{ml}/\text{min}$)	ADA (μml)
1	8,24	456,96	69,4	0	7,30	285,60
2	9,82	299,88	32,3	0	8,96	199,92
3	7,60	571,20	24,2	0	6,25	499,80
4	8,52	528,36	170,3	0	4,74	428,40
5	12,70	85,68	529,1	0	5,20	71,40
6	7,30	514,08	452,0	0	9,40	314,16
7	4,05	1199,52	30,8	0	0,34	899,64
8	7,13	485,52	108,9	0	8,10	442,68
9	4,32	1270,92	125,0	0	0,23	856,80
10	3,02	2270,52	86,4	0	3,44	1142,40

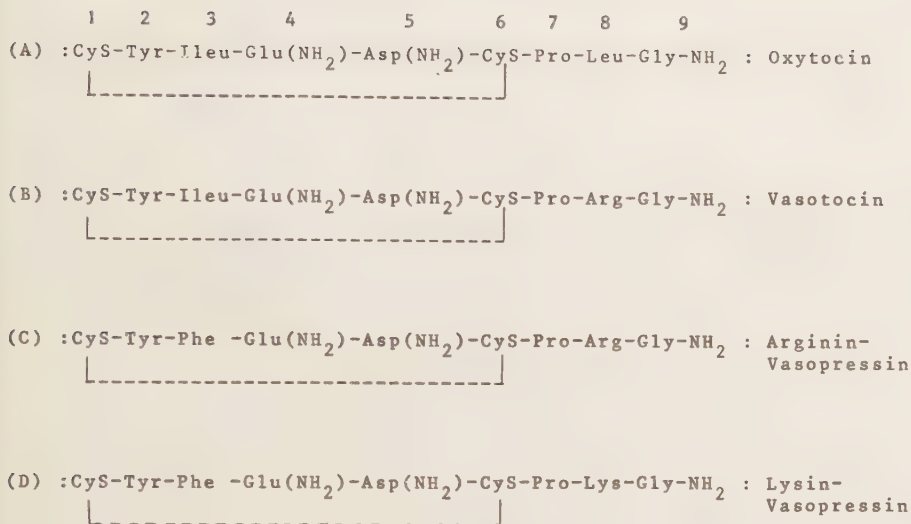


Abb. 1: Schematische Strukturformel der heute bekannten
4 neurohypophysären Hormone

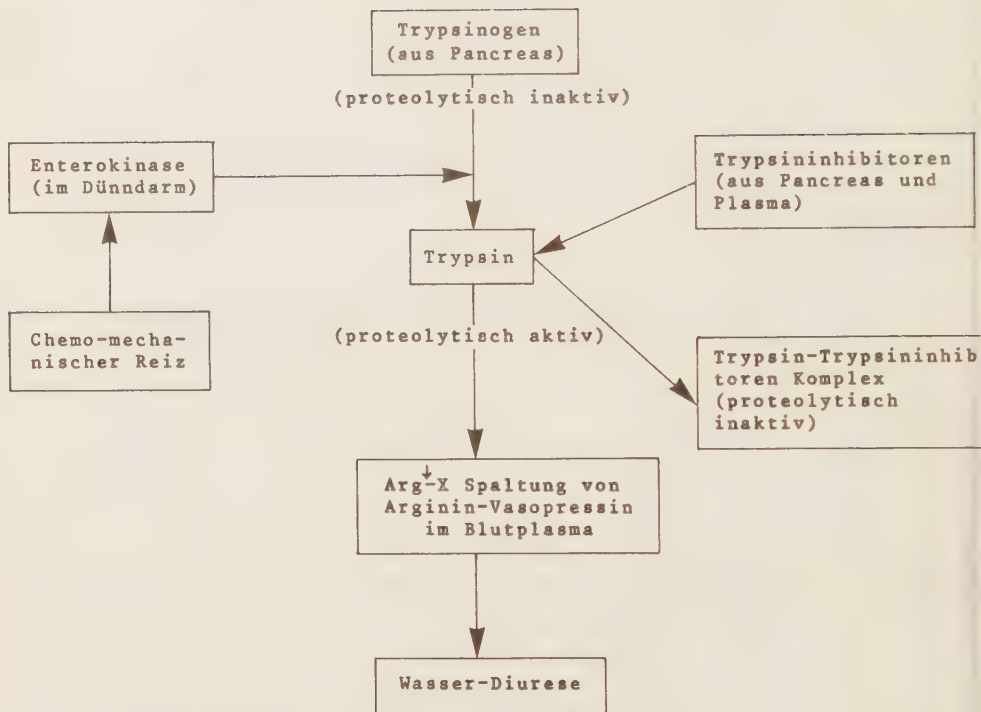


Abb. 2: Arbeitshypothese zur Erklärung einer Diurese durch Änderung der Konzentration von Trypsin und antidiuretischem Hormon im Blut nach enteraler Wasseraufnahme (siehe Text).

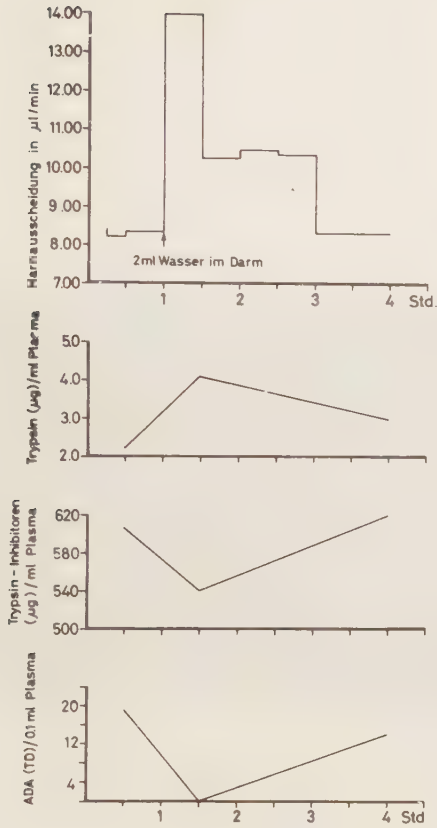


Abb. 3: Das Verhalten von antidiuretischer Aktivität, Trypsin und Trypsininhibitoren im Plasma der Ratte bei der durch Wasseraufnahme aus dem Darm ausgelösten Diurese.



Abb. 4: Standardisierung von Tonephin (ADH)
Die antidiuretische Aktivität von 2;
1 und 0,5 µE Vasopressin.

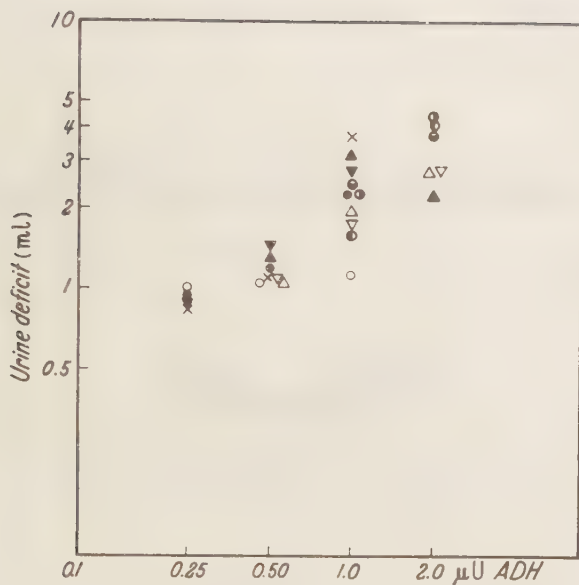


Abb. 5: Die antidiuretische Aktivität von 0,25; 0,5 und 1,0 μ E Tenephin in 10 Versuchen.

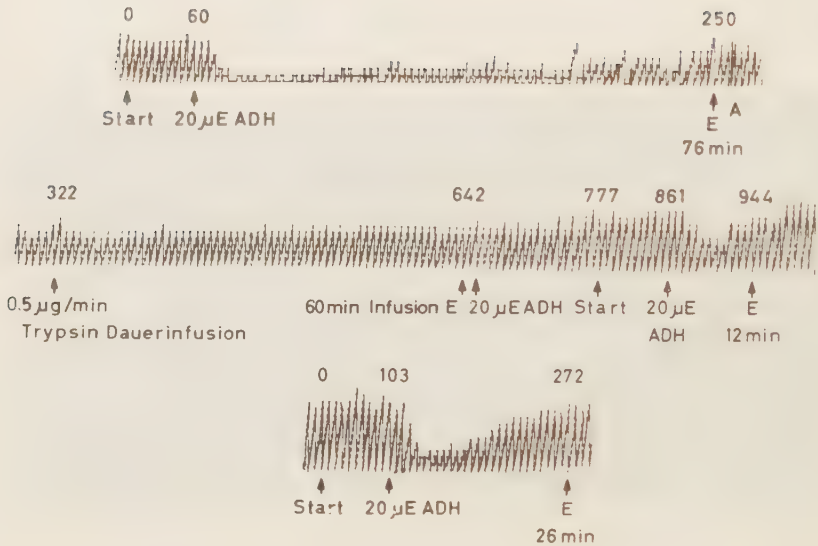


Abb. 6: Die Inaktivierung von Arginin-Vasopressin durch Trypsin in der Ratte (siehe Text).

Obere Registrierung: Antidiurese, ausgelöst durch i.v. Injektion von 20 µE ADH.
 Mittlere Registrierung: Dauerinfusion von 0,5 µg Trypsin/min. für 1 Stunde. Erste Injektion von 20 µE ADH unmittelbar nach Beendigung der Trypsininjektion ohne Wirkung. Zweite Injektion von 20 µE ADH 25 Minuten nach Beendigung der Trypsininjektion; geringe antidiuretische Wirkung. Dritte Injektion von 20 µE ADH 50 Minuten nach Beendigung der Trypsininjektion; wieder deutliche antidiuretische Wirkung.

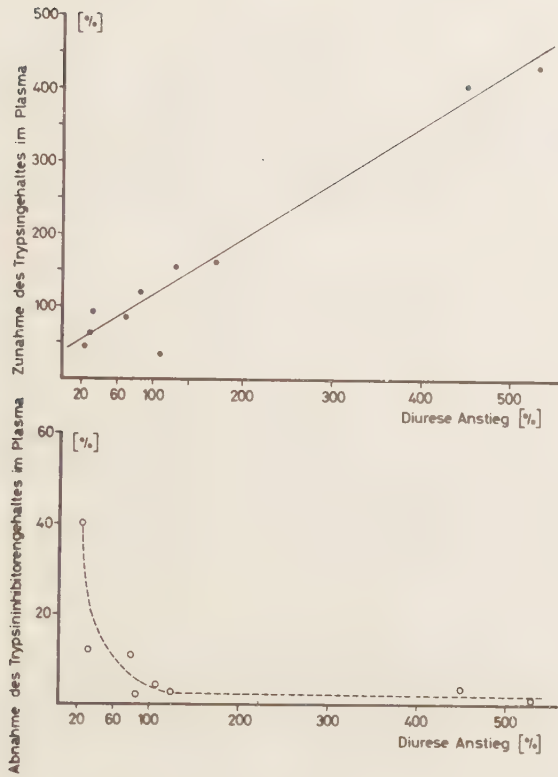


Abb. 7: Änderung des Trypsin und der Trypsininhibitoren (Z) bei Diurese-Anstieg.

L i t e r a t u r

- 1.) Adlersberg, D.:
Zur Rolle der Leber im Wasserhaushalt
Klin. Wschr. 13, 393-399 (1934)
- 2.) Ambard, L., et F. Schmidt:
De la diurese aqueuse
C.R.Soc. Biol. (Paris) 101, 180-182 (1929)
- 3.) Arndt, J. O.:
Diuresis induced by water infusion into
the carotid loop and its inhibition by
small hemorrhage
Pflügers Arch. ges. Physiol. 282, 313-
322 (1965)
- 4.) Arndt, J. O., and O. H. Gauer:
Diuresis induced by water infusion into
the carotid loop of unanaesthetized dogs
Pflügers Arch. ges. Physiol. 282, 301-
312 (1965)
- 5.) Aziz, O., F. J. Haberich u. P. E. Nowacki:
Technik der Dauerkatheterisierung der
Vena portae und Vena cava caudalis an
der wachen Ratte
Naturwissenschaften 51, 557 (1964)
- 6.) Berde, B.: Recent progress in Oxytocin research
Thomas Springfield 1959

- 7.) Blackwood, C., and Ines Mandl:
An Improved Test for the Quantitative
Determination of Trypsin, Trypsin-
like Enzymes, and Enzyme Inhibitors
Analytical Biochemistry 2, 370-379
(1961)
- 8.) Cow, D.: Einige Studien über Diurese
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.
Pharmak. 69, 393-411 (1912)
- 9.) Czazkes, J. W., C. R. Kleeman, and M. Koenig:
Physiologic studies of antidiuretic hor-
mone by its direct measurement in human
plasma
J. Clin. Invest. 43, 1625 (1964)
- 10.) Duff, W. M., E. H. Grineu, and J. Kramer:
Studies on the physiology of Vasopressin.
I: Ultrasensitive bioassay of Vasopressin
Physiologist 7, 120 (1964)
- 11.) Dyke, H. B. van, B. F. Chow, R.O. Greep, and A. Rothen:
The isolation of a protein from the pars
neuralis of the ox pituitary with constant
Oxytocin, pressor and diuresis-inducing
activities
J. Pharmacol. exp. Ther. 74, 190 (1942)
- 12.) Ginsberg, W.:
Diureseversuche
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.
Pharmak. 69, 381-392 (1912)

- 13.) Glaubauch, S. u. H. Molitor:
Die diuresefördernde Wirkung von
Leberextract bei niereninsuffizien-
ten Hunden
Wien. klin. Wschr. 1437-1438 (1929)
- 14.) Grindeland, R. E., and E. Anderson:
Assay of Vasopressin in blood
Fed. Proc. 23, 150 (1964)
- 15.) Haberich, F. J., O. Aziz und P. E. Nowacki:
Über einen osmorezeptorisch tätigen
Mechanismus in der Leber
Pflügers Archiv 285, 73-89 (1965)
- 16.) Hashimoto, M: Zur Frage der aus dem Verdauungstrakt
darstellbaren diuretisch wirkenden
Substanz
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.
Pharmak. 76, 367-400 (1914)
- 17.) Heintz, R., E. F. Drews u. H. Brass:
Untersuchungen über den Gehalt des
menschlichen Plasma an antidiureti-
schem Hormon mit einer verbesserten
Methode zum Hormonnachweis.
Klin. Wschr. 42, 771 (1964)
- 18.) Heller, H.: Antidiuretic hormones of the neuro-
hypophysis. 1st. Internat. Congr. of
Endocrinology. Copenhagen 18.-23.7.1960.
Advance Abstracts of Symposium. Lectures
and Round Table Discussion. p. 51-56

- 19.) Henry, J. P., Gauer, O. H., and Reeves, J. L.:
Evidence of the atrial location
of receptors influencing urine
flow.
Circ. Res. 4:85, 1956
- 20.) Jeffers, W. A., M. M. Livezey, and J. H. Austin:
A method for demonstrating an anti-
diuretic action of minute amounts of
pitressin.
Statistical analysis of results
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 50,
184 (1942)
- 21.) Kazal, L. A., D. S. Spicer, and R. A. Brahinsky:
Isolation of a crystalline trypsin
inhibitor-anticoagulant protein from
pancreas
J. Am. Chem. Soc. 70, 3034-3040 (1948)
- 22.) Kunitz, M., and J. H. Northrop:
Isolation from bees pancreas of
crystalline trypsinogen, trypsin,
trypsin inhibitor and an inhibitor
trypsin compound
J. Gen. Physiol. 19, 991-1007 (1936)
- 23.) Lawler, H. C., and du Vigneaud, V.:
Enzymatic evidence for intrinsic
Oxytotic activity of pressor anti-
diuretic hormone
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 84,
114 (1953)

- 24.) Millies, E.: A new diuretic factor of hepatic origin
Acta physiol. lat.-amer. 10, 178-193 (1960)
- 25.) Molitor, H.: Wasserhaushalt
Wien. Klin. Wzchr. 1 - 13 (1928)
- 26.) Peanasky, R. J., and H. Laskowski
Partial purification of the trypsin inhibitor from blood plasma
J. Biol. Chem. 204, 153 (1953)
- 27.) Sawyer, W. H., Munsick, R. A. and Van Dyke, H. B.:
Antidiuretic hormones
Circulation 21, 1027-1037 (1960)
- 28.) Tata, P. S., und O. H. Gauer:
Demonstration einer Methode zur Bestimmung kleinster Vasopressinmengen
Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 102 (1963)
- 29.) Tata, P. S., and O. H. Gauer:
Vasopressin Studies in the Rat.
I: A Sensitive Bioassay for Exogenous Vasopressin
Pflügers Archiv 290, 279-285 (1966)
- 30.) Thorn, N. A., and Lawrence Silver:
Chemical form of circulating Antidiuretic Hormone in rats
J. exp. Med. 105, 575 (1957)
- 31.) Thorn, N. A.: Mammalian antidiuretic hormone
Physiol. Rev. 38, 169-195 (1958)

32.) Van Dyke, H. B.:

Vasopressins. XXIst. Internat. Congr.
of Physiol. Sci., Buenos Aires 9.-15.8.
1959. Symposia and Special Lectures. p.
61-70

33.) Van Dyke, H. B.:

Some features of the pharmacology of
Oxytocin. Symposium on Oxytocin.
Montevideo 17.-19.8.1959

34.) Verney, E. B.: The antidiuretic hormone and the factors
which determine its release
Proc. roy. Soc. B135, 25-105 (1948)

35.) Vorherr, H., u. V. Friedberg:

Verbesserte Methode zum Adiuretin Nachweis
Klin. Wschr. 37, 1171 (1959)

An dieser Stelle möchte ich mich für die freundliche Unterstützung und stets großzügige Förderung durch Herrn Prof. Dr. O. H. Gauer bedanken.

Herrn H. J. Wicke bin ich für die angenehme Zusammenarbeit und für die freundliche Hilfe ebenfalls dankbar.

L e b e n s l a u f

Am 3.3.1933 wurde ich, Phiroze T a t a , als 2. Kind des Farbenfabrikanten Savaksha Tata und seiner Ehefrau Homai Tata, geb. Batliwala in Bombay geboren.

Von 1938 bis 1942 besuchte ich die Grundschule und anschliessend bis 1952 das Gynasium in Bombay. Dort bestand ich dann auch das Abitur.

Vom Wintersemester 1961 an studierte ich an der Freien Universität Berlin Medizin. Ich führte mein gesamtes Studium an dieser Universität durch.

Meine Ärztliche Vorprüfung bestand ich im Wintersemester 1963/64, die Ärztliche Prüfung am 8. September 1967.

Seit Januar 1970 bin ich in der Inneren Abteilung der Kinderklinik des Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin als Assistenzarzt tätig.

